

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 1 月 22 日 (22.01.2004)

PCT

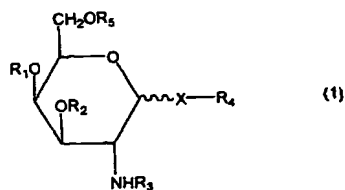
(10) 国際公開番号
WO 2004/007515 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C07H 15/203, A61K 31/7034, A61P 1/00, 11/06, 17/00, 25/00, 25/02, 25/18, 25/24, 25/28, 37/06, 43/00, 29/00, C12N 9/99
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/008785
- (22) 国際出願日: 2003 年 7 月 10 日 (10.07.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2002-201843 2002 年 7 月 10 日 (10.07.2002) JP
特願 2002-382122 2002 年 12 月 27 日 (27.12.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 生化学工業株式会社 (SEIKAGAKU CORPORATION) [JP/JP]; 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目 1 番 5 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 羽渕 脩 躬 (HABUCHI, Osami) [JP/JP]; 〒466-0812 愛知県名古屋市昭和区八事富士見 7 0 3 番地 Aichi (JP). 中野 博文 (NAKANO, Hirofumi) [JP/JP]; 〒448-0001 愛知県刈谷市井ヶ谷町広沢 1 愛知教育大学内 Aichi (JP). 澤田 敏彦 (SAWADA, Toshihiko) [JP/JP]; 〒441-2432 愛知県北設楽郡設楽町大字東納庫字前田 4-5 Aichi (JP). 藤井 園子 (FUJII, Sonoko) [JP/JP]; 〒763-0012 香川県丸亀市土居町一丁目 1 1-2 1 Kagawa (JP). 大

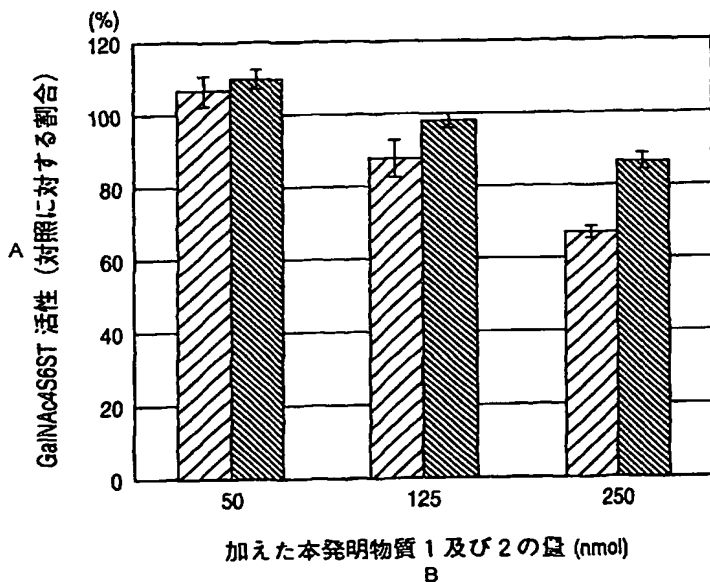
[続葉有]

(54) Title: SULFOTRANSFERASE INHIBITORS

(54) 発明の名称: 硫酸基転移酵素阻害剤



(57) Abstract: A galactosamine derivative represented by the following general formula (1): (1) wherein R_1 , R_2 and R_5 independently represent each SO_3^- or H, provided that at least one of them represents SO_3^- ; R_3 represents H, acetyl or SO_3^- ; R_4 represents H, optionally substituted alkyl, alkenyl, alkynyl, acyl, aryl or aralkyl; X represents O, S, NH or CH_2 ; and the wavy line represents an α -bond or a β -bond; and a sulfotransferase inhibitor containing this derivative.



A...GalNAc4S6ST ACTIVITY (RATIO TO CONTROL)

B...ADDITION LEVEL (nmol) OF INVENTION SUBSTANCE 1 OR 2

[続葉有]



竹しおり (OHTAKE, Shiori) [JP/JP]; 〒440-0071 愛知県豊橋市北島町北島74-1 Aichi (JP).

(74) 代理人: 小栗 昌平, 外 (OGURI, Shohei et al.); 〒107-6028 東京都港区赤坂一丁目12番32号 アーク森ビル 28階 栄光特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

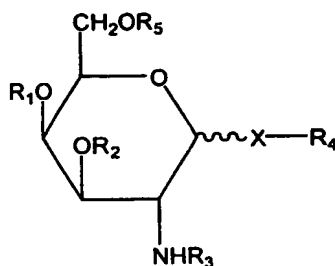
添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

下記式 (1) で表されるガラクトサミン誘導体



(1)

(式中 R_1 、 R_2 及び R_5 は各々独立に SO_3^- 又は H を示し、少なくとも何れかは SO_3^- を示し、 R_3 は H 、アセチル基又は SO_3^- を示し、 R_4 は H 、又は置換されてもよいアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アシル基、アリール基、又はアラルキル基を示し、 X は O 、 S 、 NH 、又は CH_2 を示し、 \sim は α 結合又は β 結合を示す)、および該誘導体を含む硫酸基転移酵素阻害剤。

明 細 書

硫酸基転移酵素阻害剤

技術分野

本発明は硫酸基転移酵素の阻害剤に関し、更に詳細にはグリコサミノグリカンの一種であるコンドロイチン硫酸の基本骨格に含まれる 4-硫酸化ガラクトサミン残基の 6 位炭素原子に結合したヒドロキシル基を硫酸化する活性を有する硫酸基転移酵素（以下「GalNAc4S6ST」ともいう）の該活性を阻害する阻害剤に関する。

背景技術

コンドロイチン硫酸は、グルクロン酸と N-アセチルガラクトサミンとが 1-3 グリコシド結合で結合した二糖が 1-4 グリコシド結合で連なった骨格（本明細書中においては「基本骨格」とも記載する）を有し、硫酸基を有する多糖である、グリコサミノグリカンの一種である。

このようなコンドロイチン硫酸等のグリコサミノグリカンをはじめ、プロテオグリカン、糖タンパク質及び糖脂質は硫酸基を有しているものが多く、その生合成には多くの硫酸基転移酵素が関与している。特に J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001) に記載された酵素や、それによって生ずるいわゆるコンドロイチン硫酸 E (J. Biol. Chem., 264, 14916-14922 (1989)) 等は、免疫系・神経系又は炎症反応に深く関与していることが示唆されており、当該酵素の阻害剤は免疫抑制剤（例えばアトピー性皮膚炎、喘息、クローン病の治療薬等）や神経調節剤・疾患治療剤（神経症、アルツハイマー、躁鬱症、精神病、自律神経失調症、神経性腸炎等の治療薬、神経修復調節剤、抗炎症剤等）に応用できる可能性が高い（米国特許第 6265192 号、第 6365365 号等）。

このような硫酸基転移酵素の阻害剤としては例えば Biochem. Biophys. Res. Commun., 150, 342-348 (1988) に記載された chlorate や J. Biol. Chem., 267, 8802-8806 (1992) に記載された brefeldinA 等が存在する。しかし、前者は硫酸基転移酵素による硫酸基転移に対して非特異的な拮抗作用を示すことにより、後者は糖鎖合成の場であるゴルジ体を破壊することにより、コンドロ

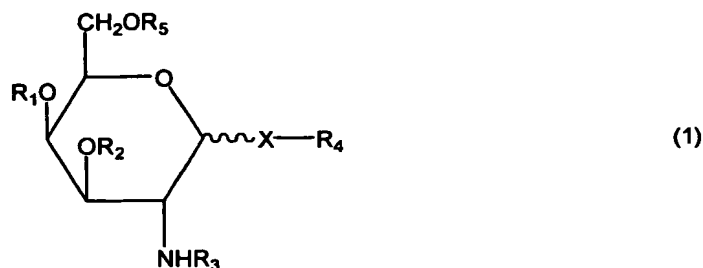
イチン硫酸のみならず他のグリコサミノグリカンや糖タンパク質の生合成までも強力に阻害してしまう働きがあるため、治療薬として利用できる可能性が極めて低かった。

そこで、特定の硫酸基転移酵素に対して特異性の高い阻害活性を有する新規の化合物、及びそれを用いた新たな硫酸基転移酵素阻害剤が求められていた。

発明の開示

本発明は以下の(1)～(11)に関する。

(1) 下記式(1)で表されるガラクトサミン誘導体。



式中 R_1 、 R_2 及び R_5 は各々独立に SO_3^- 又は H を示し、少なくとも何れかは SO_3^- を示し、

R_3 は H 、アセチル基又は SO_3^- を示し、

R_4 は H 、置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のアルケニル基、置換又は無置換のアルキニル基、置換又は無置換のアシル基、置換又は無置換のアリール基、又は置換又は無置換のアラルキル基を示し、

X は O 、 S 、 NH 、又は CH_2 を示し、

~~~~ は  $\alpha$  結合又は  $\beta$  結合を示す。

(2)  $R_1$  及び  $R_2$  が  $\text{H}$  であり、 $R_3$  がアセチル基であり、 $R_4$  が置換又は無置換のアリール基であり、 $R_5$  が  $\text{SO}_3^-$  である、(1) 記載のガラクトサミン誘導体。

(3)  $R_1$  が  $\text{SO}_3^-$  であり、 $R_2$  及び  $R_5$  が  $\text{H}$  であり、 $R_3$  がアセチル基であり、 $R_4$  が置換又は無置換のアリール基である、(1) 記載のガラクトサミン誘導体。

(4)  $R_1$  及び  $R_5$  が  $\text{H}$  であり、 $R_2$  が  $\text{SO}_3^-$  であり、 $R_3$  がアセチル基であり、 $R_4$  が置換又は無置換のアリール基である、(1) 記載のガラクトサミン誘導体。

(5) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を含む、硫酸基転移酵素阻害剤。

(6) コンドロイチン硫酸の基本骨格中の 4-硫酸化ガラクトサミン残基の 6 位炭素原子に結合したヒドロキシル基へ硫酸基を転移する活性を有する硫酸基転移酵素の前記活性を阻害する、(5) 記載の硫酸基転移酵素阻害剤。

(7) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を硫酸基転移酵素による酵素反応系に存在させることを含む、硫酸基転移酵素の活性を阻害する方法。

(8) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体の硫酸基転移酵素阻害剤としての使用。

(9) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体の硫酸基転移酵素阻害剤の製造のための使用。

(10) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を有効成分として含有する、硫酸基転移酵素の活性を阻害することに基づく医薬。

(11) (1)～(4) 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を有効成分として含有する、硫酸基転移酵素の活性の亢進に起因する疾病の治療又は予防のための医薬。

#### 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明物質 1 及び本発明物質 2 の GalNAc4S6ST に対する阻害活性を示す図である。それぞれの使用量において、左のカラムは本発明物質 1 を示し、右のカラムは本発明物質 2 を示す。

第 2 図は、本発明物質 3 及び本発明物質 4 の GalNAc4S6ST に対する阻害活性を示す図である。それぞれの使用量において、左のカラムは本発明物質 3 を示し、右のカラムは本発明物質 4 を示す。

第 3 図は、本発明物質 5 及び本発明物質 6 の GalNAc4S6ST に対する阻害活性を示す図である。それぞれの使用量において、左のカラムは本発明物質 5 を示し、右のカラムは本発明物質 6 を示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明者等は上記課題の解決のために鋭意検討した結果、「3 位、4 位及び／又は 6 位炭素原子が硫酸化されたガラクトサミン」のアノメリック炭素にグリコシド結合でアグリコン分子が結合してなる「ガラクトサミン誘導体」が硫酸基転移酵素、特に GalNAc4S6ST に対して優れた阻害活性を有することを見だし、本発明を完成した。

以下、発明の実施の形態により本発明を詳説する。

#### (1) 本発明物質

本発明物質は下記式 (1) で表されることを特徴とするガラクトサミン誘導体である。



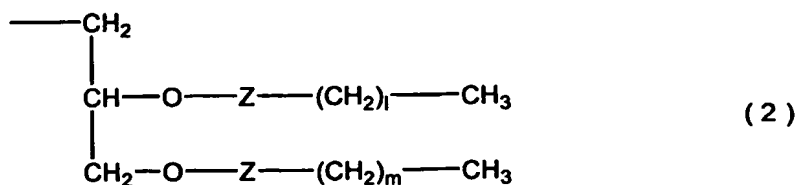
式中  $R_1$ 、 $R_2$  及び  $R_5$  は各々独立に  $\text{SO}_3^-$  (硫酸基) 又は H (水素原子) を示し、そのうち少なくとも一つは  $\text{SO}_3^-$  であり、 $R_3$  は H、アセチル基又は  $\text{SO}_3^-$  を示し、 $R_4$  は H、置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のアルケニル基、置換又は無置換のアルキニル基、置換又は無置換のアシル基、置換又は無置換のアリール基、又は置換又は無置換のアラルキル基を示し、X は O、S、NH、 $\text{CH}_2$  を示し、 $\sim$  は  $\alpha$  結合又は  $\beta$  結合を示す。

本発明物質である式 (1) で示される硫酸化ガラクトサミン誘導体を構成する硫酸化ガラクトサミン残基部分 (上記式中「硫酸化ガラクトサミン残基部分」と示した部分) は、硫酸化ガラクトサミン残基の 2 位のアミノ基がアセチル化又は硫酸化されていても良く、特にアセチル化されていることが好ましい。すなわち  $R_3$  は H、アセチル基又は  $\text{SO}_3^-$  が挙げられ、特にアセチル基であることが好ましい。

また、硫酸化ガラクトサミン残基の 3 位、4 位及び 6 位炭素原子に結合しているヒドロキシル基の水素原子が各々独立に  $\text{SO}_3^-$  に置換していても良く、これら炭素原子の何れかが少なくとも硫酸化されていることが必要である。すなわち、上記式中  $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$  及び  $\text{R}_5$  は各々独立に  $\text{SO}_3^-$  又は  $\text{H}$  を示し、少なくとも何れかは  $\text{SO}_3^-$  であることが必要である。最も好ましくは、 $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$  及び  $\text{R}_5$  の何れか 1 つのみが  $\text{SO}_3^-$  であり、他は  $\text{H}$  である。

式 (1) で示される  $\text{R}_4$  の部分は水素原子 ( $\text{H}$ ) 又は一般に糖の修飾や保護に用いるアグリコン分子を示し、アグリコン分子の方が水素原子よりも好ましい。そのようなアグリコン分子としては置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のアルケニル基、置換又は無置換のアルキニル基、置換又は無置換のアシル基、置換又は無置換のアリール基、又は置換又は無置換のアラルキル基が挙げられるが、置換又は無置換のアリール基及びアラルキル基が好ましく、特に置換又は無置換のアリール基が好ましい。

上記アルキル基としては例えば炭素数 1~23、好ましくは 2~20 の直鎖又は分枝を有するアルキル基が挙げられ、炭素数 2~18 の直鎖のアルキル基が好ましいアルキル基として挙げられる。また、アルキル基は、下記式 (2) で示すようなアルキルグリセロール由来の骨格を有するアルコキシアシル基又はアシルグリセロール由来の骨格を有するアシルオキシアシル基でも良い (下記構造式中 1、 $m$  は各々独立に 0~18 の整数を示し、 $Z$  は各々独立にメチレン基又はカルボニル基を示す)。



上記アルケニル基及びアルキニル基は、炭素数 1~23、好ましくは 2~20 であることが好ましく、炭素原子同士の二重結合、三重結合を複数有していても良い。

上記アシル基とは、一般に  $\text{---CO---R}$  で表される基であれば何れでも良いが、 $\text{R}$  で表される部分の炭素数は 1~23、好ましくは 2~20 である。尚、上記一般式

において R は上述したアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、後述のアリール基、アラルキル基から選択されるいずれかの基である。

アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アシル基は、更に、ヒドロキシ基 (OH)、オキソ基、ハロゲン原子、置換又は無置換のアリール基、置換又は無置換の複素環基、ニトロ基、置換又は無置換のアミノ基、トリフルオロメチル基、置換又は無置換のアルキルチオ基、置換又は無置換のアリールオキシ基、置換又は無置換のカルバモイル基、メルカプト基、シアノ基等で置換されていてもよい。なおここで置換複素環基、置換アミノ基、置換アルキルチオ基、置換アリールオキシ基、置換カルバモイル基の置換基としては、ヒドロキシ基 (OH)、オキソ基、ハロゲン原子が挙げられる。また、複素環基とは、例えば、窒素原子、酸素原子および硫黄原子から選ばれる少なくとも 1 個の原子を含む 3～8 員の複素環基が挙げられる。

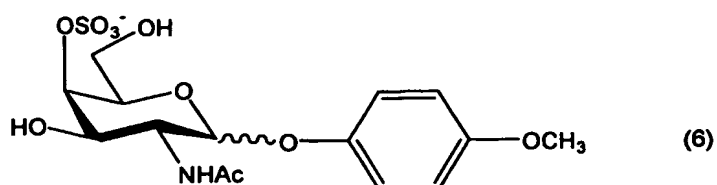
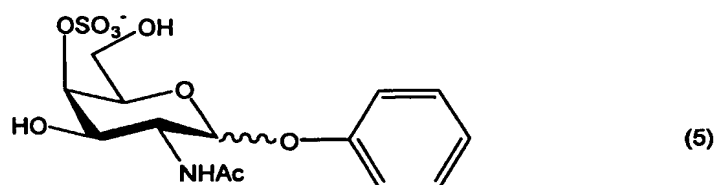
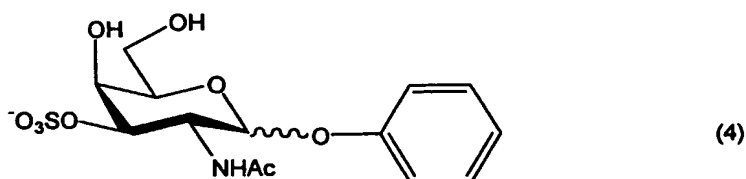
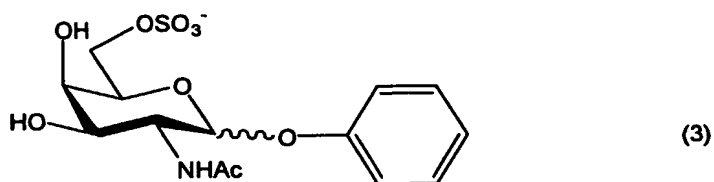
上記アリール基とは例えばフェニル基、ナフチル基等の芳香族炭化水素残基、又はこれらの芳香族炭化水素残基において更にアルキル基、アシル基、ヒドロキシ基 (OH)、ハロゲン原子 (フッ素原子 (F)、塩素原子 (Cl)、臭素原子 (Br)、ヨウ素原子 (I) 等)、ニトロ基 (NO<sub>2</sub>)、硫酸基 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、オキソ基等の置換基が芳香環の水素原子に置換している芳香族残基 (例えばアルコキシフェニル基、トリル基等) が例示され、この中でも特にフェニル基及びナフチル基が好ましく、特にフェニル基が好ましい。

上記アラルキル基とは、前記置換又は無置換のアリール基 (Ar) にアルキル基が結合した Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-を一般式として表される残基であり、前記 n は 1～20 が好ましく、2～18 がより好ましい。このようなアラルキル基としては、例えばベンジル基、フェネチル基、α-メチルベンジル基等が例示される。

上記式 (1) における、「硫酸化ガラクトサミン残基部分」と R<sub>4</sub> との結合は、「硫酸化ガラクトサミン残基部分」の硫酸化ガラクトサミン誘導体残基の 1 位炭素原子を介したグリコシド結合であり、これは α-グリコシド結合であっても β-グリコシド結合であっても良い (式 (1) 中波線 ~~~ で表記した結合)。また、本発明におけるグリコシド結合とは、例えば通常のグリコサミノグリカンの基本骨格に存在する O-グリコシド結合の他、O (酸素原子) 部分が S (硫黄原子)、NH (イミノ基)、又は CH<sub>2</sub> (メチレン基) に各々置換した S-グリコシド結合、N-グリコシド結合、及び C-グリコシド結合も包含する。しかし、本発

明物質においては特に O-グリコシド結合であることが好ましい。すなわち、上記式中 X は O、S、NH 及び CH<sub>2</sub> が例示されるが、O が最も好ましい。なお、糖を構成する六員環はフネ型とイス型の何れもが存在しうるが、本発明物質においては安定性の面からイス型が好ましい。しかしこれに限定はされない。

従って、最も好ましい硫酸化ガラクトサミングリコシド誘導体の例示としては、下記式 (3)、式 (4)、式 (5) 及び式 (6) 等で各々示される物質が挙げられる。



これらの式中、Ac はアセチル基を示す。波線  $\sim$  は、硫酸化ガラクトサミン残基部分へのグリコシド結合の様式である  $\alpha$  及び  $\beta$  を示す。便宜上  $\alpha$  結合している上記式 (3) で表される本発明物質を「本発明物質 1」と表記し、 $\beta$  結合している上記式 (3) で表される本発明物質を「本発明物質 2」と記載する。また同様に  $\alpha$  結合している上記式 (4) で表される本発明物質を「本発明物質 3」と、 $\beta$  結合している上記式 (4) で表される本発明物質を「本発明物質 4」と、 $\alpha$  結合している上記式 (5) で表される物質を「本発明物質 5」と、 $\beta$  結合している上記式 (5) で表される物質を「本発明物質 6」と記載する。

本発明物質 1 及び 2 は以下の方法で調製することができる。

すなわち、フェニル 2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノシドを乾燥ピリジンに溶解し、これに三酸化硫黄ピリジン錯体を添加して反応させ、6 位ヒドロキシル基を選択的に硫酸化することによって合成することができる。反応後、イオン交換を行い、これを濃縮することで本発明物質 1 又は 2 を得ることができる。上記反応後、必要に応じ、イオン交換樹脂を用いたクロマトグラフィーやゲル濾過法等の分子量により化合物を分離する方法を用いて精製することが可能である。

また、本発明物質 3 及び 4 は以下の方法で調製することができる。すなわち、2-アセトアミド 4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ-D-ガラクトピラノシドを乾燥ピリジンに溶解し、三酸化硫黄ピリジン錯体を加え、これを例えば 50℃ で加熱しながら 4 時間以上攪拌して、3 位ヒドロキシル基を硫酸化した後、メタノールを加えた後、濃縮して反応生成物を得、この反応生成物を、エタノール水溶液に溶解し、この溶液にパラジウム触媒を加え、水素ガス雰囲気下で反応させてベンジリデン基を除去し、その後、セライト等を使用して濾過した後、常法に従って精製して調製することができる。

さらに、本発明物質 5 及び 6 は、フェニル 2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-スルホニル-6-O-ベンジル-D-ガラクトピラノシドをエタノール水溶液等に溶解し、パラジウム触媒を添加し、水素ガス雰囲気下で反応させて 6 位ベンジル基を除去することによって合成することができる。反応混合物をセライト等で濾過した後、常法に従って精製して得ることができる。

このようにして得られる本発明物質は、硫酸基転移酵素（特に J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001) 記載の硫酸基転移酵素）及び当該酵素の基

質（硫酸基供与体及び硫酸基受容体）と共存させて、硫酸基転移酵素の酵素活性を測定することにより、下記本発明阻害剤としての作用を確認することができる。

## （２）本発明阻害剤

本発明阻害剤は本発明物質を含み、硫酸基転移酵素の活性を阻害する作用を有する。

本発明阻害剤が活性を阻害する硫酸基転移酵素とは硫酸基供与体から硫酸基受容体に硫酸基を転移する活性を有する酵素であり、コンドロイチンの基本骨格に存在するガラクトサミンの 4 位炭素原子に結合したヒドロキシル基を硫酸化する働きを有する酵素又はグリコサミノグリカンの基本骨格に存在するヘキソサミン残基の 6 位ヒドロキシル基に対して硫酸基を転移する酵素であることが好ましく、特に後者の酵素が好ましい。このような酵素としては特開平 10-33168 号、特開 2001-57882 号、J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001)、特開 2000-60566 号、W002/00889、特開 2001-61481 号、特開平 8-33483 号記載の酵素が例示され、その中でも特にコンドロイチン硫酸に存在するガラクトサミン残基に対して硫酸基を転移する酵素であるコンドロイチン 6-硫酸基転移酵素（特開平 10-33168 号、特開 2001-57882 号、J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001)）が好ましく、最も好ましくは J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001) 記載の酵素（コンドロイチン硫酸に存在する 4-硫酸化ガラクトサミン残基の 6 位ヒドロキシル基に対して硫酸基を転移する活性を有する酵素：GalNAc4S6ST が例示される。

本発明阻害剤において「酵素活性の阻害活性」とは、本発明阻害剤を添加しない反応系（対照）での酵素活性を 100%、酵素を添加しない系（陰性対照）での酵素活性を 0%とした場合に、対照と比べて酵素活性が 5%以上低下する場合を指称する。本発明阻害剤は特に後述の実施例 2 記載の阻害活性の測定方法に従って阻害活性を測定した際に、2.5mM の阻害剤濃度での反応時において 5%以上、好ましくは 10%以上、最も好ましくは 15%以上の阻害活性を示す。

本発明阻害剤は、コンドロイチンの基本骨格に対して硫酸基を転移する酵素、特に GalNAc4S6ST の活性が亢進して発症する疾病又は GalNAc4S6ST の活性を抑制することで症状の進行の遅延、症状の改善、予防が可能な疾病に対する予防

薬、治療薬として使用することが可能である。具体的には、例えばアレルギー、炎症、神経失調、神経疾患等の予防薬や治療薬等に利用することが可能である。従って、本発明阻害剤を公知の抗アレルギー剤や抗炎症剤、神経失調治療剤、神経疾患治療剤等と混合して使用することも可能である。

また、本発明阻害剤は、薬理学的に許容される一つ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供することが可能である。そのような担体としては、具体的には、安定化剤、乳化剤、浸透圧調整剤、緩衝剤、等張化剤、保存剤、無痛化剤、着色剤、賦形剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、界面活性剤等、通常医薬に用いられる成分が挙げられる。

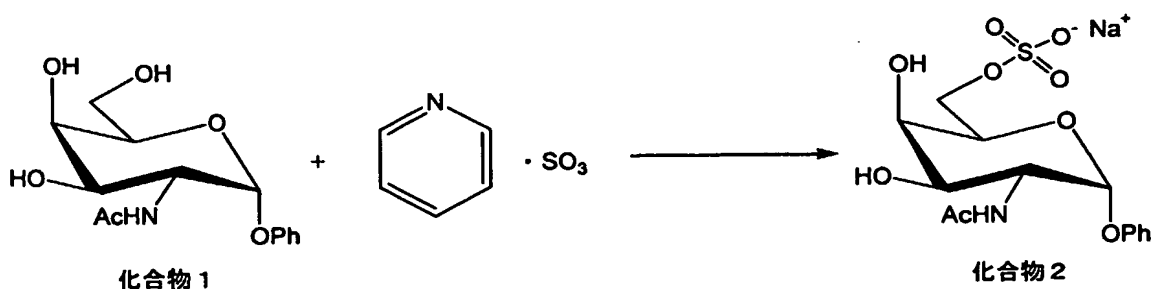
投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与、または鼻、粘膜、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができる。

投与量または投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢、体重等により異なるが、通常成人1日当たり1mg～1000mg程度で1回～数回投与する。

## 実施例 1

### 本発明物質の調製

#### (1) 本発明物質 1 の調製



フェニル 2-アセトアミド-2-デオキシ- $\alpha$ -D-ガラクトピラノシド (化合物 1) 21.7mg (0.073mmol) を乾燥ピリジン 1.5cm<sup>3</sup> に溶解し、三酸化硫黄ピリジン錯体 20.1mg (0.126mmol) を添加して室温で 6 時間攪拌した。反応混合液にメタノールを 1.5cm<sup>3</sup> 添加し、イオン交換樹脂 Na<sup>+</sup>型 (PARTISIL10SAX : Whatman 社

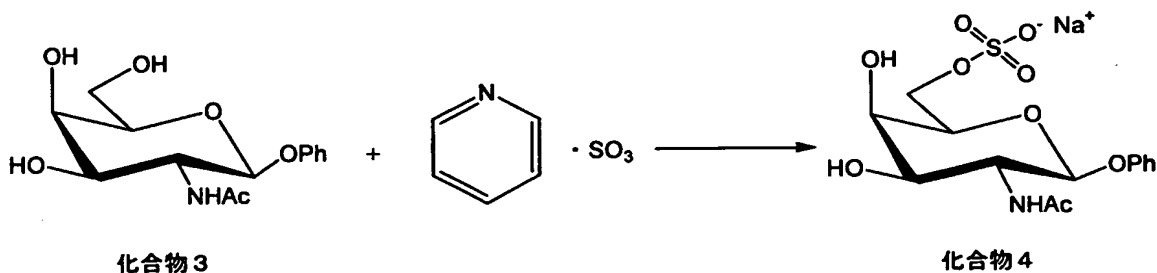
製)を通過させ、溶出液を減圧濃縮し、化合物 2 (本発明物質 1) 34.4mg を得た。化合物 2 をイオン交換樹脂 (PARTISIL10SAX : Whatman 社製) を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、及びゲル濾過 (Superdex30 カラムを使用 : ファルマシアバイオテック社製) により精製した。このようにして調製した本発明物質 1 を  $^1\text{H-NMR}$  で分析した。なお、上記化学式中「Ph」はフェニル基を示す。

(化合物 2)

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz、 $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta$  (ppm) : 1.92 (s, 3H,  $\text{NHCOCCH}_3$ ), 3.97-4.10 (m, 4H), 4.23-4.27 (m, 2H), 5.44 (d, 1H,  $J=3.7$  Hz,  $\alpha\text{-H-1}$ ), 7.00-7.04 (m, 3H), 7.24-7.28 (m, 2H)

## (2) 本発明物質 2 の調製



フェニル 2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド (化合物 3) 40.4mg (0.1358mmol) を乾燥ピリジン  $2.0\text{cm}^3$  に溶解し、三酸化硫黄ピリジン錯体 44.5mg (0.2781mmol) を添加して  $24^\circ\text{C}$  で 6 時間攪拌した。反応混合液にメタノールを  $1.5\text{cm}^3$  添加し、イオン交換樹脂  $\text{Na}^+$  型 (Dowex50W : ダウケミカル社製) を通過させた。溶出液を遠心分離して不用物を除去した後、減圧濃縮し、化合物 4 (本発明物質 2) 5.0mg を得た。化合物 4 をイオン交換樹脂 (PARTISIL10SAX : Whatman 社製) を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、及びゲル濾過 (Supaerdex30 カラムを使用 : ファルマシアバイオテック社製) により精製した。このようにして調製した本発明物質 2 を  $^1\text{H-NMR}$  で分析した。なお、上記化学式中「Ph」はフェニル基を示す。

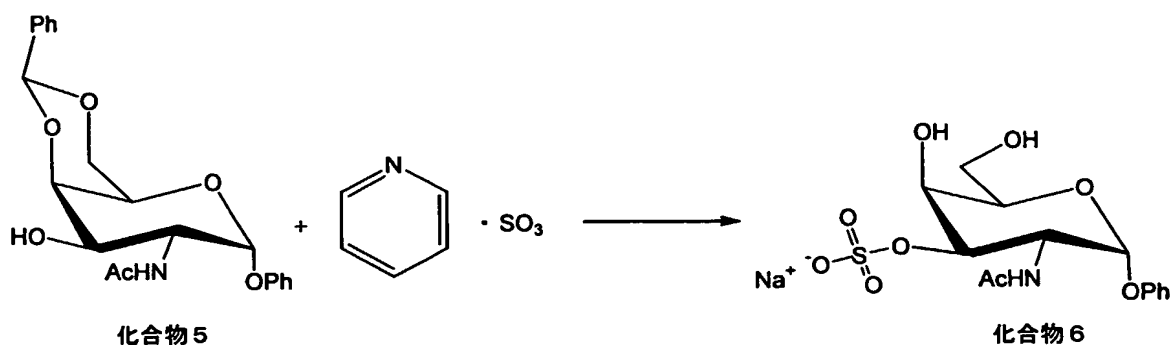
(化合物 4)

収率 : 9 %

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta$  (ppm): 1.88 (s, 3H,  $\text{NHCOCCH}_3$ ), 3.72 (d, 1H,  $J=11.5\text{Hz}$ , H-3), 3.93 (s, 1H, H-4), 3.97-4.15 (m, 4H, H-6, H-5, H-2), 4.94 (d, 1H,  $J=8.3\text{Hz}$ ,  $\beta$ -H-1), 6.94-7.03 (m, 3H), 7.22-7.28 (m, 2H)

### (3) 本発明物質 3 の調製



2-アセトアミド 4,6-O-ベンジリデン-2-デオキシ- $\alpha$ -D-ガラクトピラノシド (化合物 5) 30.4mg (0.0788mmol) を乾燥ピリジン 2.0 $\text{cm}^3$  に溶解し、三酸化硫黄・ピリジン錯体 134.3mg (0.8395mmol) を加えた。これを 50 $^{\circ}\text{C}$  で加熱しながら 20 時間攪拌した後、メタノールを 2.0 $\text{cm}^3$  を加えた。反応後、イオン交換樹脂  $\text{Na}^+$  型に通過させ、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。

この精製物 18.5mg (0.0379mmol) を、エタノール水溶液 2.0 $\text{cm}^3$  に溶解し、この溶液にパラジウム触媒 (パラジウム-炭) 21.2mg を加え、水素ガス雰囲気下、40 $^{\circ}\text{C}$  で加熱しながら 33 時間攪拌した。反応後、セライトで濾過した後、電気泳動、ゲル濾過によって精製し、化合物 6 (本発明物質 3) を得た (3.9mg)。なお、上記化学式中「Ph」はフェニル基を示す。

(化合物 6)

収率: 26%

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

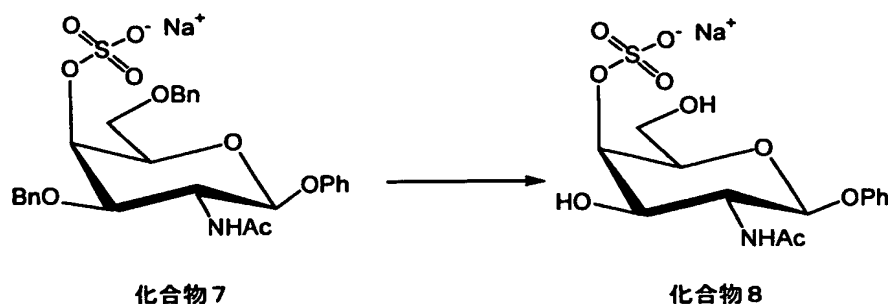
$\delta$  (ppm): 1.91 (s, 3H,  $\text{NHCOCCH}_3$ ), 3.60 (d, 2H,  $J=6.1\text{Hz}$ , H-6), 4.01 (t, 1H,  $J=6.1\text{Hz}$ , H-5), 4.26 (d, 1H,  $J=3.2\text{Hz}$ , H-4), 4.43 (dd, 1H,  $J=10.7\text{Hz}$ ,

$J=3.7\text{Hz}$ , H-2), 4.62–4.69 (m, 1H, H-3), 5.55 (d, 1H,  $J=3.7\text{Hz}$ ,  $\alpha$ -H-1), 6.99–7.06 (m, 3H), 7.24–7.26 (m, 2H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (100.4MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta$  (ppm): 24.82, 50.65, 63.75, 74.41, 78.50, 99.09, 120.03, 126.06, 132.72, 158.75, 177.61

### (3) 本発明物質6の調製

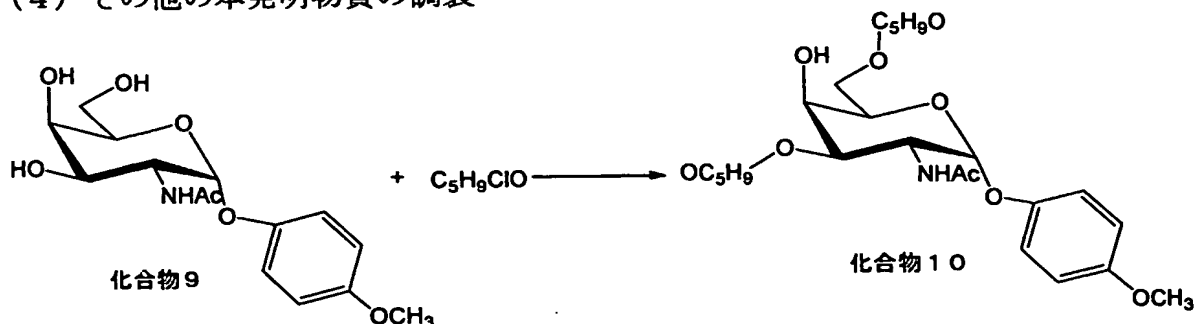


フェニル 2-アセトアミド-2-デオキシ-4-0-スルホニル-6-0-ベンジル- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド (化合物7) 16.2mg (0.0279mmol) をエタノール水溶液 2.0 $\text{cm}^3$  に溶解し、パラジウム触媒 (パラジウム-炭) 30.4mg を添加した。水素ガス雰囲気下、40℃で加熱しながら 21 時間攪拌した。反応混合物をセライトで濾過した後、イオン交換樹脂及びゲル濾過クロマトグラフィーを用いて精製した。このようにして調製した化合物8 (本発明物質6) を 5.2mg を得た。なお、上記化学式中「Bn」はベンジル基を示し、「Ph」はフェニル基を示す。

(化合物8)

収率: 47%

## (4) その他の本発明物質の調製



化合物 9 (D-ガラクトサミン誘導体) 103.2 mg (0.315 mmol) と乾燥ジクロロメタン $1.55\text{cm}^3$ を混同し、ピリジン $1.05\text{cm}^3$ を加えた。この混合物を $0^\circ\text{C}$ に冷却した後、ピバロイルクロリド $0.125\text{cm}^3$  ( $d=0.979$ ,  $1.0149\text{ mmol}$ ) を加えて室温で15.5時間攪拌した。さらに反応混合物にピバロイルクロリド $0.10\text{cm}^3$  ( $0.812\text{ mmol}$ ) を追加して室温で7時間攪拌した後、クロロホルム $50\text{cm}^3$ に溶かし、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 $15\text{cm}^3$ で3回、飽和食塩水 $15\text{cm}^3$ で3回洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル-ヘキサン) で分離精製し、無色オイル状の化合物 10 を $102.6\text{mg}$  ( $0.207\text{mmol}$ ) 得た。

(化合物 10)

収率 : 66%

$R_f=0.278$  (50% 酢酸エチル-ヘキサン 1回展開)

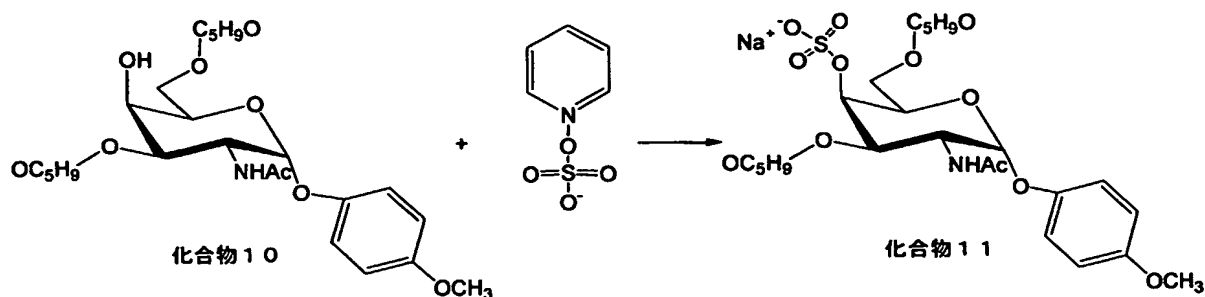
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  (ppm) : 1.08 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.21 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.93 (s, 3H,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 3.75 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.03 (m, 1H, H-4), 4.13–4.21 (m, 2H, H-5 and H-6a), 4.33 (dd,  $J_{6a,6b}=11.0\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6b}=3.9\text{ Hz}$ , H-6b), 4.83 (ddd,  $J_{2,3}=11.0\text{ Hz}$ ,  $J_{2,\text{NH}}=10.2\text{ Hz}$ ,  $J_{1,2}=3.6\text{ Hz}$ , H-2), 5.30 (dd,  $J_{2,3}=11.0\text{ Hz}$ ,  $J_{3,4}=3.2\text{ Hz}$ , H-3), 5.43 (d,  $J_{1,2}=3.6\text{ Hz}$ , H-1), 5.76 (d,  $J_{2,\text{NH}}=10.2\text{ Hz}$ , NH), 6.78–6.82 (m, 2H, arom. H), 6.96–7.00 (m, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C}$  NMR (100.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  (ppm) : 23.26 (q,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 27.03 (q,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 27.07 (q,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 38.65 (s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 39.09 (s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 47.42 (d, C-2), 55.68 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 63.30 (t, C-6), 67.72 (d, C-4), 69.10 (d, C-5), 70.31 (d, C-3), 97.19

(d, C-1), 114.75 (d, arom. CH), 117.76 (d, arom. CH), 150.10 (s, arom. C), 155.35 (s, arom. C), 169.86 (s,  $\text{NHCOCCH}_3$ ), 178.32 (s,  $\text{O}=\text{CC}(\text{CH}_3)_3$ ), 178.56 (s,  $\text{O}=\text{CC}(\text{CH}_3)_3$ )



53.9 mg (0.108 mmol) の化合物 10 を乾燥ピリジン 5 cm<sup>3</sup> と混合し、三酸化硫黄・ピリジン錯体 38.4 mg (0.241 mmol) を加えた。40°C で 6 時間攪拌した後、反応混合物にメタノール 1 cm<sup>3</sup> を加え、Dowex 50W X8 (200~400 メッシュ) Na<sup>+</sup> 型に通過させた。通過液を減圧濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル-ヘキサン) で分離精製し、無色結晶の化合物 11 (29.8 mg : 0.0499 mmol) を単離した。

(化合物 11)

収率 : 46%

R<sub>f</sub> = 0.625 (30% メタノール-クロロホルム 1 回展開)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

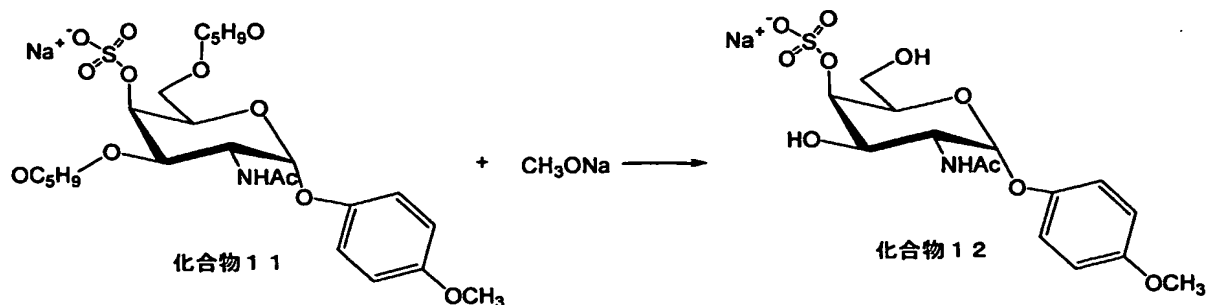
δ (ppm) : 1.01 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.16 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.93 (s, 3H, NHCOCCH<sub>3</sub>), 3.71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.14 (d, J = 9.9 Hz, 1H, H-6a), 4.31 (t, J = 5.3 Hz, 1H, H-5), 4.49 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H-6b), 4.75 (td, J<sub>2,3</sub> = J<sub>2,NH</sub> = 10.5 Hz, J<sub>1,2</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-2), 5.02 (m, 1H, H-4), 5.27 (dd, J<sub>2,3</sub> = 10.5 Hz, J<sub>3,4</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-3), 5.43 (d, J<sub>1,2</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-1), 6.25 (br s, 1H, NH), 6.69 (d, J = 8.7 Hz, 2H, arom. H)

6.87 (d, J = 8.7 Hz, 2H, arom. H)

<sup>13</sup>C NMR (100.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ (ppm) : 23.21 (q, NHCOCCH<sub>3</sub>), 26.98 (q, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.06 (q, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.66 (s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 39.01 (s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 47.82 (d, C-2), 55.58 (q, OCH<sub>3</sub>), 64.46 (t, C-6), 69.12 (d, C-3), 69.12 (d, C-5), 73.20 (d, C-4), 97.27

(d, C-1), 114.56 (d, arom. CH), 118.42 (d, arom. CH), 150.31 (s, arom. C), 155.27 (s, arom. C), 170.51 (s,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 179.30 (s,  $\text{O}=\text{CC}(\text{CH}_3)_3$ ), 179.63 (s,  $\text{O}=\text{CC}(\text{CH}_3)_3$ )



29.8 mg (0.0499 mmol) の化合物 1 1 と乾燥メタノール  $1.0\text{cm}^3$  とを混合し、 $1.0\text{ mol/dm}^3$  ナトリウムメトキシドメタノール溶液  $0.10\text{cm}^3$  を加えた。室温で48時間攪拌した後、反応混合物をアンバーライトIRC 50 H<sup>+</sup>型で中和し、減圧濃縮した。残留物をゲルろ過 (Superdex 30) で精製し、無色結晶の化合物 1 2 (本発明物質) 11.3 mg (0.0266 mmol) を得た。

(化合物 1 2)

収率 : 53%

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta$  (ppm) : 1.94 (s, 3H,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 3.63 (dd,  $J_{6a,6b}=11.8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6a}=7.9\text{ Hz}$ , H-6a), 3.68 (dd,  $J_{6a,6b}=11.8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6b}=4.4\text{ Hz}$ , H-6b), 3.69 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.12-4.16 (m, 2H, H-3 and H-5), 4.22 (dd,  $J_{2,3}=11.1\text{ Hz}$ ,  $J_{1,2}=3.7\text{ Hz}$ , H-2), 4.69-4.72 (m, 1H, H-4), 5.41 (d,  $J_{1,2}=3.7\text{ Hz}$ , H-1), 6.84-6.88 (m, 2H, arom. H), 6.97-7.01 (m, 2H, arom. H)

$^{13}\text{C}$  NMR (100.4 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta$  (ppm) : 24.76 (q,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 53.05 (d, C-2), 58.67 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 63.93 (t, C-6), 69.56 (d, C-3), 73.98 (d, C-5), 79.47 (d, C-4), 99.92 (d, C-1), 117.92 (d, arom. CH), 121.70 (d, arom. CH), 153.30 (s, arom. C), 157.56 (s, arom. C), 177.60 (s,  $\text{NHCOCH}_3$ )

## 実施例 2

酵素活性の測定は J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001) 記載の方法を改変して行なった。標準反応液は 50  $\mu$ l 中に、2.5  $\mu$ mol のイミダゾール-HCl (pH6.8)、0.5  $\mu$ mol の  $\text{CaCl}_2$ 、1  $\mu$ mol の還元型グルタチオン、ガラクトサミン換算で 25nmol のコンドロイチン硫酸 A (クジラ軟骨由来：生化学工業株式会社製)、50pmol の [ $^{35}\text{S}$ ]PAPS (活性硫酸：約  $5.0 \times 10^5$ cpm：Anal. Biochem., 148, 303-310 (1985) に従って調製した)、及び J. Biol. Chem., 276, 43894-43900 (2001) 記載の方法で調製したヒト由来の GalNAc4S6ST を添加した。この反応系に本発明物質 1、本発明物質 2、本発明物質 3、本発明物質 4、本発明物質 5、本発明物質 6 を各々最終濃度 50nmol、125nmol、及び 250nmol となるように添加して反応を開始した。

反応は、反応液を 37°C で 20 分間インキュベートして行い、反応の停止は 1 分間反応チューブを沸騰水中で加熱して行なった。反応停止後、1.3%酢酸カリウムを含むエタノールを 3 倍量添加し、 $^{35}\text{S}$  ラベルされたグリコサミノグリカン を沈殿させ、J. Biol. Chem. 268, 21968-21974 (1993) に記載された方法で高速脱塩カラムを用いたゲルクロマトグラフィーを行って、その後、シンチレーションカウンターで放射能を測定した。陰性対照として酵素を添加しない反応系を用いた。

本発明物質を添加しない系の酵素活性を陽性対象として 100%とし、本発明物質を添加した系での酵素反応の相対値を算出した (本発明物質 1 及び本発明物質 2：第 1 図、本発明物質 3 及び本発明物質 4：第 2 図、本発明物質 5 及び本発明物質 6：第 3 図)。

その結果、本発明物質 1、本発明物質 2 共に阻害活性が観察され、特に本発明物質 2 の阻害活性が強かった。また本発明物質 3～6 に関しても、何れも阻害活性が観察されたが、本発明物質 3 ( $\alpha$  型) と本発明物質 4 ( $\beta$  型) とでは本発明物質 3 の方が強い阻害活性を示し、本発明物質 5 ( $\alpha$  型) と本発明物質 6 ( $\beta$  型) とでは本発明物質 6 の方が強い阻害活性を示した。

本発明を詳細にまた特定の実施態様を参照して説明したが、本発明の精神と範囲を逸脱すること無く様々な変更や修正を加えることができることは当業者にとって明らかである

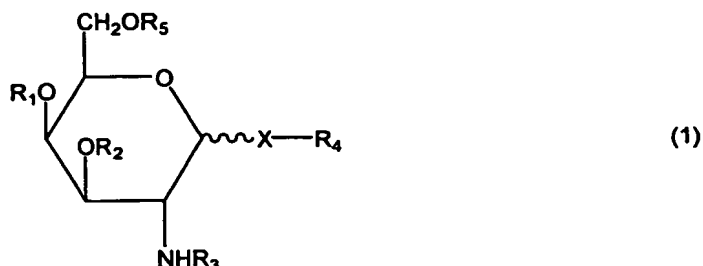
本出願は、2002 年 7 月 10 日および 2002 年 12 月 27 日出願の日本特許出願（特願 2002-201843 および特願 2002-382122）に基づくものであり、その内容はここに参照として取り込まれる。ここに引用されるすべての参照は全体として取り込まれる。

#### 産業上の利用可能性

本発明により硫酸基転移酵素の阻害活性を有するガラクトサミン誘導体及びそれを用いる硫酸基転移酵素阻害剤が提供される。

## 請 求 の 範 囲

1. 下記式(1)で表されるガラクトサミン誘導体。



式中  $R_1$ 、 $R_2$  及び  $R_5$  は各々独立に  $\text{SO}_3^-$  又は  $\text{H}$  を示し、少なくとも何れかは  $\text{SO}_3^-$  を示し、

$R_3$  は  $\text{H}$ 、アセチル基又は  $\text{SO}_3^-$  を示し、

$R_4$  は  $\text{H}$ 、置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のアルケニル基、置換又は無置換のアルキニル基、置換又は無置換のアシル基、置換又は無置換のアリール基、又は置換又は無置換のアラルキル基を示し、

$X$  は  $\text{O}$ 、 $\text{S}$ 、 $\text{NH}$ 、又は  $\text{CH}_2$  を示し、

~~~~ は  $\alpha$  結合又は  $\beta$  結合を示す。

2. R_1 及び R_2 が H であり、 R_3 がアセチル基であり、 R_4 が置換又は無置換のアリール基であり、 R_5 が SO_3^- である、請求の範囲1記載のガラクトサミン誘導体。

3. R_1 が SO_3^- であり、 R_2 及び R_5 が H であり、 R_3 がアセチル基であり、 R_4 が置換又は無置換のアリール基である、請求の範囲1記載のガラクトサミン誘導体。

4. R_1 及び R_5 が H であり、 R_2 が SO_3^- であり、 R_3 がアセチル基であり、 R_4 が置換又は無置換のアリール基である、請求の範囲1記載のガラクトサミン誘導体。

5. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を含む、硫酸基転移酵素阻害剤。

6. コンドロイチン硫酸の基本骨格中の 4-硫酸化ガラクトサミン残基の 6 位炭素原子に結合したヒドロキシル基へ硫酸基を転移する活性を有する硫酸基転移酵素の前記活性を阻害する、請求の範囲 5 記載の硫酸基転移酵素阻害剤。

7. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を硫酸基転移酵素による酵素反応系に存在させることを含む、硫酸基転移酵素の活性を阻害する方法。

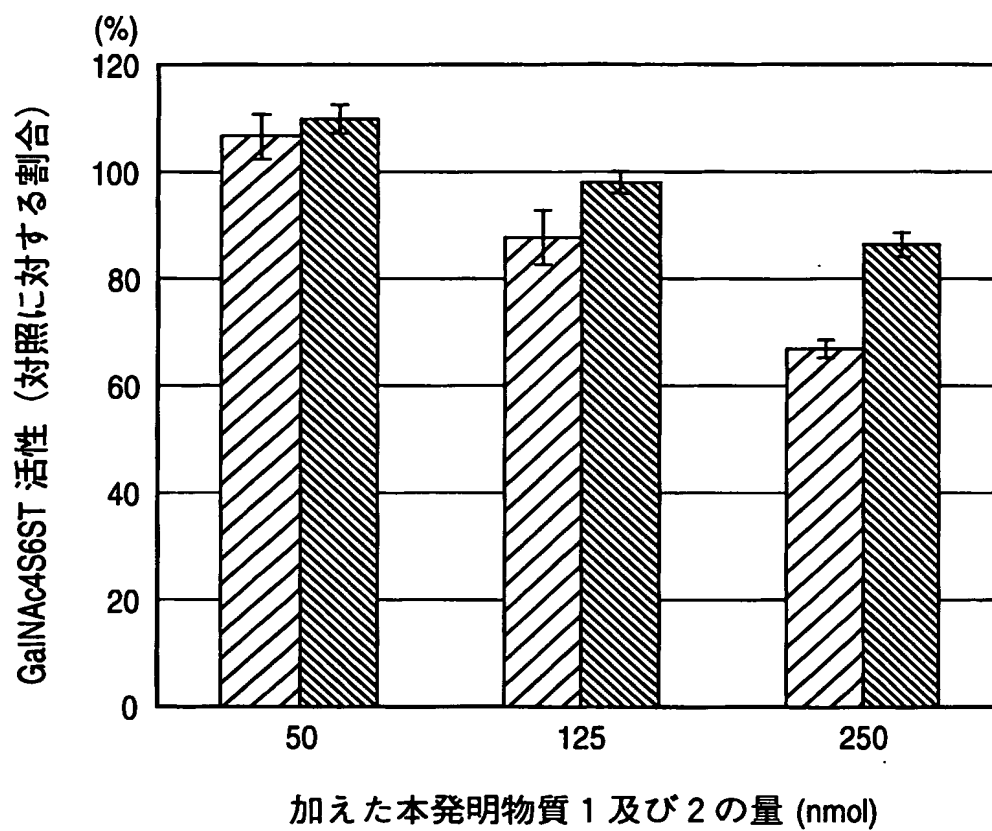
8. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体の硫酸基転移酵素阻害剤としての使用。

9. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体の硫酸基転移酵素阻害剤の製造のための使用。

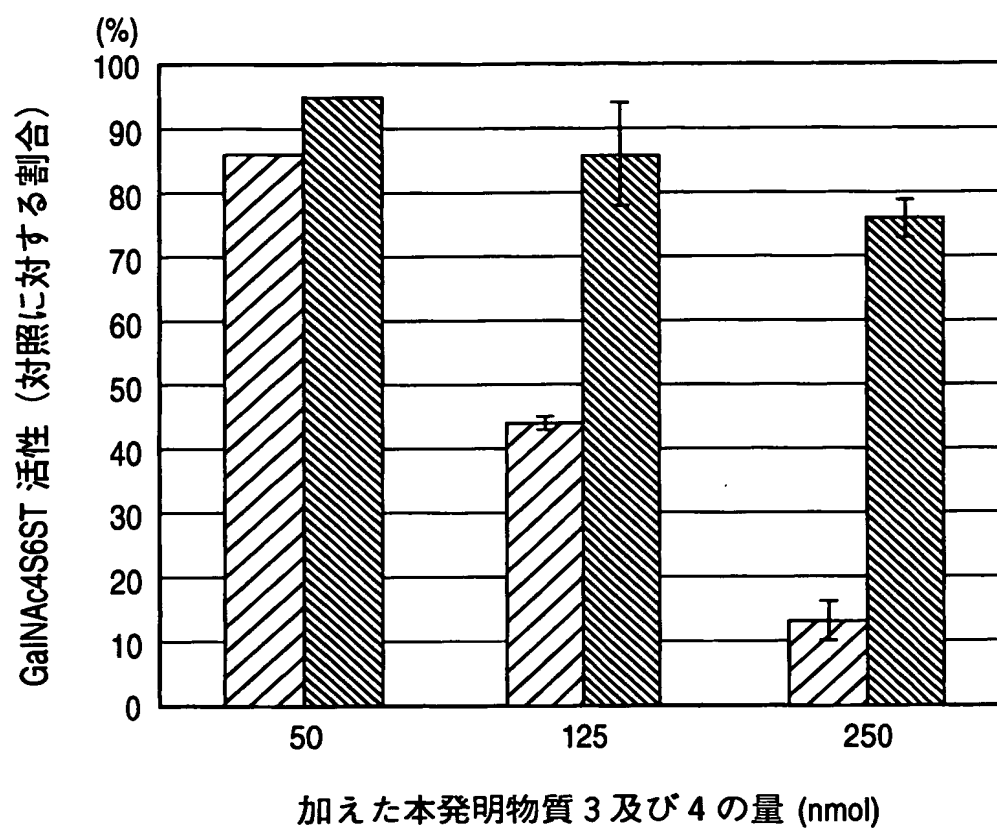
10. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を有効成分として含有する、硫酸基転移酵素の活性を阻害することに基づく医薬。

11. 請求の範囲 1 ～ 4 何れか 1 項記載のガラクトサミン誘導体を有効成分として含有する、硫酸基転移酵素の活性の亢進に起因する疾病の治療又は予防のための医薬。

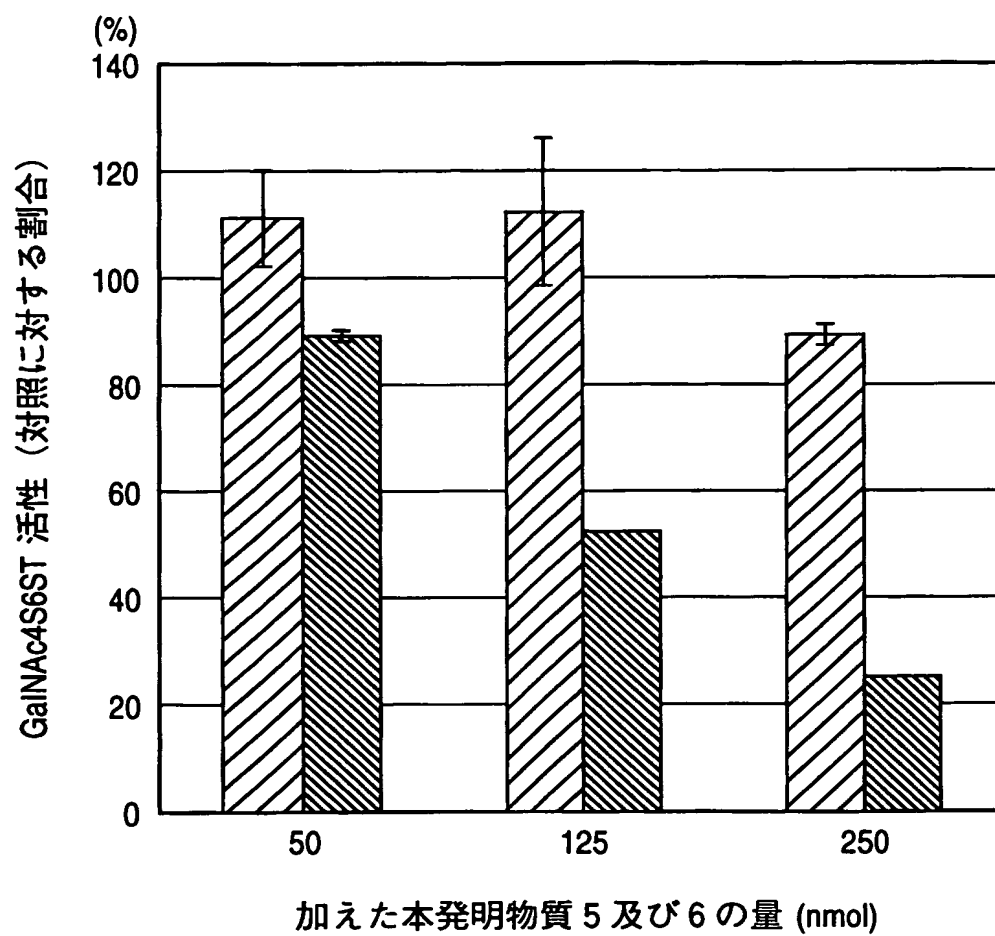
第 1 図



第 2 図



第 3 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/08785

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07H15/203, A61K31/7034, A61P1/00, 11/06, 17/00, 25/00,
25/02, 25/18, 25/24, 25/28, 37/06, 43/00, 29/00, C12N9/99

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07H15/203, A61K31/7034, A61P1/00, 11/06, 17/00, 25/00,
25/02, 25/18, 25/24, 25/28, 37/06, 43/00, 29/00, C12N9/99

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN),
BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X | Osami HABUCHI et al., Sulfation of <i>p</i> -Nitrophenyl- <i>N</i> -acetyl- β -D-galactosaminide with a Microsomal Fraction from Cultured Chondrocytes, The Journal of Biological Chemistry, 1985, Vol.260, No.24, pages 13102 to 13108, full text | 1, 2 |
| X | Paul E.FRASER et al., Amyloid- β Interactions with Chondroitin in Sulfate-derived Monosaccharides and Disaccharides, The Journal of Biological Chemistry, 2001, Vol.276, No.9, pages 6412 to 6419, full text | 1 |
| X | WO 97/00879 A1 (ISM. INSTITUTE FOR SOCIO-MEDICAL RESEARCH),
09 January, 1997 (09.01.97),
Examples 1 to 6
& AU 9662478 A1 | 1 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

| | |
|---|--|
| * Special categories of cited documents: | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

| | |
|--|---|
| Date of the actual completion of the international search
08 October, 2003 (08.10.03) | Date of mailing of the international search report
28 October, 2003 (28.10.03) |
| Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/08785

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | Kiyoshi IKEDA et al., Synthesis of <i>N</i> -Acetylglucosaminyl- and <i>N</i> -Acetylgalactosaminylceramides as Cerebroside Analogs and Their Anti-human Immunodeficiency Virus Type 1 Activities, Chem. Pharm.Bull., 1997, Vol.45, No.2, pages 402 to 405, compound 5b | 1 |
| X | Barbara FAROUX-CORLAY et al., Synthesis of single- and double-chain fluorocarbon and hydrocarbon galactosyl amphiphiles and their anti-HIV-1 activity, Carbohydrate Research, 2000, Vol.327, pages 223 to 260, CODE NAME: II-Gal(NHAc)(Sul) Cys[C14][C12](L) | 1 |
| X | Tina HORROBIN et al., Esterase-catalysed regioselective 6-deacylation of hexopyranose per-acetates, acid-catalysed rearrangement to the 4-deprotected products and conversions of these into hexose 4- and 6-sulfates, J.Chem. Soc., Perkin Trans.1, 1998, pages 1069 to 1080, compound 48 | 1 |
| A | Kazuyuki SUGAHARA et al., Regulation of Serum Glycosaminoglycan Sulfotransferase Activities: Inhibition by Sulfated Glycosaminoglycans and Activation by Polyamines and Basic Peptides Including a Polylysine-Containing Segment of the c-Ki-ras 2 Protein, J.Biochem., 1989, Vol.106, pages 910 to 919 | 1-6,8-11 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/08785

Continuation of Box No.I-1 of continuation of first sheet(1)

to methods for treatment of the human body by therapy.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/08785

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Since "an enzyme reaction system by a sulfotransferase" also occurs in the human body and "a method of inhibiting the activity of a sulfotransferase" involves methods of preventing or treating diseases caused by the enzyme, the invention as set forth in claim 7 pertains (continued to extra sheet)

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H15/203, A61K31/7034, A61P1/00, 11/06, 17/00, 25/00, 25/02, 25/18, 25/24, 25/28, 37/06, 43/00, 29/00, C12N9/99

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H15/203, A61K31/7034, A61P1/00, 11/06, 17/00, 25/00, 25/02, 25/18, 25/24, 25/28, 37/06, 43/00, 29/00, C12N9/99

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の
カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する
請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| X | Osami HABUCHI, et al., Sulfation of <i>p</i> -Nitrophenyl- <i>N</i> -acetyl- β -D-galactosaminide with a Microsomal Fraction from Cultured Chondrocytes, The Journal of Biological Chemistry, 1985, Vol. 260, No. 24, p. 13102-13108, 全文 | 1, 2 |
| X | Paul E. FRASER, et al., Amyloid- β Interactions with Chondroitin in Sulfate-derived Monosaccharides and Disaccharides, The Journal of Biological Chemistry, 2001, Vol. 276, No. 9, p. 6412-6419, 全文 | 1 |

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08.10.03

国際調査報告の発送日 28.10.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希

4 P

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
「硫酸基転移酵素による酵素反応系」は人間の体内にも存在し、また、「硫酸基転移酵素の活性を阻害する方法」は該酵素に起因する疾患を予防又は治療する方法を包含することから、請求の範囲7に記載された発明は、治療による人体の処置方法に関するものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の
カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する
請求の範囲の番号 |
| X | WO 97/00879 A1 (ISM. INSTITUTE FOR SOCIO-MEDICAL RESEARCH)
1997.01.09, Example 1-6
& AU 9662478 A1 | 1 |
| X | Kiyoshi IKEDA, et al., Synthesis of <i>N</i> -Acetylglucosaminyl- and <i>N</i> -Acetylgalactosaminylceramides as Cerebroside Analogs and Their Anti-human Immunodeficiency Virus Type 1 Activities, Chem. Pharm. Bull., 1997, Vol. 45, No. 2, p. 402-405, 化合物5b | 1 |
| X | Barbara FAROUX-CORLAY, et al., Synthesis of single- and double-chain fluorocarbon and hydrocarbon galactosyl amphiphiles and their anti-HIV-1 activity, Carbohydrate Research, 2000, Vol. 327, p. 223-260, CODE NAME: II-Gal (NHAc) (Sul) Cys [C14] [C12] (L) | 1 |
| X | Tina HORROBIN, et al., Esterase-catalysed regioselective 6-deacetylation of hexopyranose per-acetates, acid-catalysed rearrangement to the 4-deprotected products and conversions of these into hexose 4- and 6-sulfates, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1998, p. 1069-1080, 化合物48 | 1 |
| A | Kazuyuki SUGAHARA, et al., Regulation of Serum Glycosaminoglycan Sulfotransferase Activities: Inhibition by Sulfated Glycosaminoglycans and Activation by Polyamines and Basic Peptides Including a Polylysine-Containing Segment of the c-Ki-ras 2 Protein, J. Biochem., 1989, Vol. 106, p. 910-919 | 1-6, 8-11 |